干旱区地理
ARID LAND GEOGRAPHY

塔里木河下游胡杨根际土壤细菌群落多样性分析

李媛媛， 彭梦文， 党寒利， 姜 梦， 庄 丽， 李桂芳
（石河子大学生命科学学院，新疆 石河子 832003）

摘 要： 采用高通量测序技术，对塔里木河下游不同生长时期（幼龄期、中壮期、过熟期、衰亡期）胡杨根际土壤细菌进行测序，结合典范对应分析（CCA）与Spearman相关性分析，探讨细菌群落组成与环境因子的相关性。结果表明：(1) 土壤样品共获得7287个操作分类单元（OTUs），经过对比鉴定共得到73门，165纲，339目，454科，651属和205种。(2) 胡杨根际土壤细菌群落丰富度和多样性随生长时期表现为先增加后降低的趋势，而不同生长时期间无显著差异。(3) 胡杨根际细菌群落主要的优势细菌门为变形菌门（Proteobacteria）、unidentified_Bacteria、Halobacterota，优势细菌属为海杆菌属（*Marinobacter*）、嗜盐单胞菌属（*Halomonas*）、*Woeseia*，相较于门分类学水平，细菌群落组成在属水平上存在较大差异，不同生长时期胡杨根际细菌群落的优势菌属不同。(4) 不同生长时期胡杨根际土壤细菌群落组成可分为两大类，中壮期与衰亡期的土壤样品聚为一类，幼龄期与过熟期的土壤样品聚为一类。(5) CCA分析表明土壤含水量、全钾、总盐、pH是显著影响胡杨根际土壤细菌群落组成的环境因子（$P<0.05$）。研究结果为丰富干旱区根际微生物的研究、探讨干旱区植物-微生物之间的相互作用提供科学依据。

关 键 词： 根际；土壤微生物；高通量测序；细菌群落；塔里木河
文章编号：

塔里木河是中国最长的内陆河，流域范围内拥有上万公顷耕地以及全世界最大的天然胡杨林[1]。近几十年来，由于人类水土开发活动的干扰、河流地表水文过程的极大改变，塔里木河下游出现了断流现象，生态环境严重退化[2-3]。自2000年至今，对塔里木河进行了20次生态输水，使得下游植被得到了恢复，生态环境初步改善[4]。

胡杨（*Populus euphratica* Oliv.）是杨柳科胡杨亚属的古老物种[1,5]，是塔里木河流域的优势建群种，在保障绿洲农业生产和居民安定生活等方面发挥了积极作用[6]。伴随着生态输水工程的实施，塔里木河下游胡杨种群明显复壮，但是近年来有研究表明，塔里木河下游胡杨种群更新乏力，种群龄级结构整体呈显著的“倒金字塔型”，即种群幼株数量在种群中的比例显著下降，胡杨种群多为过熟林植株，总体表现为衰退态势[2]。

植物根际是根系自身生命活动对土壤影响最直接、最强烈的区域。土壤中细菌、真菌等微生物受到植物根系分泌物的吸引富集在根际土壤中，在植物生长发育过程中发挥了重要作用[7]。随着宏基因组概念的提出以及测序技术的快速发展，高通量测序技术已然成为研究土壤微生物多样性和群落结构特征的重要工具[8-10]。近年来，国内外学者对根际微生物进行研究时发现，根际微生物的数量与组成结构会因生境、植被类型、土壤理化性质等产生较大的差异[11-14]，对于同一植物的不同基因型，甚至同一植物的不同生长期，其根际微生物的数量、种类也有很大差别[15]。有研究表明，随着生长期的推移，根际土壤细菌群落丰度先增大后降低，多样性逐渐降低[16]，在对不同树龄乔木根际土壤微生物的数量变化进行研究时也发现，随着树龄增大，细菌、放线菌含量明显下降，多样性随树龄增长呈现

收稿日期： 2021-02-04； **修订日期：** 2021-02-27
基金项目： 国家自然科学基金地区项目（31560177）
作者简介： 李媛媛（1996-），女，在读硕士研究生，主要从事植物生态研究. E-mail: 374597860@qq.com
通讯作者： 李桂芳（1976-），女，副教授，主要从事遗传学研究. E-mail: 496068253@qq.com

先增高后降低的趋势[17]。

本研究以塔里木河下游不同生长时期的胡杨根际土壤为研究对象，利用高通量测序技术对胡杨根际土壤细菌进行测序，分析细菌群落与环境因子的关系，探究影响细菌群落的关键环境因子，为丰富干旱区根际微生物的研究以及干旱区植物-微生物之间相互作用的探讨提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究地点位于塔里木河下游英苏断面附近的天然胡杨林，地理坐标为40°28′~40°55′N，87°51′~87°75′E。该地区属于典型的大陆性极端干旱气候，降水稀少而蒸发强烈，年平均降水量<50 mm，蒸发量约2960 mm，年太阳总辐射为5692~6360 kJ·m^{-2}，多年平均气温10.5~11.4 ℃[18]，生态环境极为恶劣。在此生境下主要植物有胡杨（*Populus euphratica* Oliv.），柽柳（*Tamarix ramosissima* Lour.），甘草（*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.），骆驼刺（*Alhagi sparsifolia* Shap.）和芦苇（*Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud.）等。

1.2 试验设计与样品采集

2020年9月，在选取的天然胡杨林内进行土壤样品采集。在该区域内设置100 m×100 m样方，在样方内依据王世绩等[19]所著的《胡杨林》中的划分标准，选取4个生长时期的胡杨，其分别为：幼龄期（A）、中壮期（B）、过熟期（C）、衰亡期（D），幼龄期胡杨胸径4 cm左右，中壮期4~10 cm，过熟期30~70 cm。每个时期均选择3棵长势相近，无病虫害的胡杨，进行形态特征的测量（表1）以及根际土壤的采样。同时，在区域内选取无植被覆盖的裸地，进行裸地（CK）土壤微生物的采样，设立3个采样点取混合土样，每处获得3组平行样品。

表1 不同生长时期胡杨的形态特征

Tab. 1 Morphological characteristics of *Populus euphratica* at different developmental periods

生长时期	胸径/cm	树高/m	冠幅/m×m
幼龄期(A)	3.50~5.41	2.53~3.25	2.02×1.93~2.62×3.13
中壮期(B)	8.12~9.62	4.50~5.50	2.82×3.20~3.50×3.98
过熟期(C)	59.23~67.88	12.30~16.50	6.21×6.09~5.86×7.40
衰亡期(D)	枯立木		

根际土壤微生物的采样方法：距离主根0.5 m处开始挖土壤剖面，从细根（≤2 mm）开始出现的位置（约60 cm），抖动细根后黏附在根段上的土壤为根际土壤。每个时期的3棵胡杨根际土壤采集分别做3个平行（4时期×3个重复）。将采集的土壤分为3份，一部分使用5 mL离心管放置并保存于液氮罐中，用于根际细菌群落测定；一部分装入密封袋中带回实验室，经自然风干处理后过筛（2 mm），用于土壤理化性质测定；一部分用于土壤水分测定，土样放入铝盒中称重，带回实验室用烘箱（105 ℃）烘干法测定，根际土壤样品送于北京康普森生物技术有限公司进行16S rDNA扩增子测序。

1.3 土壤理化性质的测定

土壤理化性质测定的具体实验方法参照鲍士旦所著《土壤农化分析》[20]。测定的指标包括土壤含水量（SWC）、有机质（OM）、全氮（TN）、全磷（TP）、全钾（TK）、硝态氮（NO_3^-）、铵态氮（NH_4^+）、速效磷（AP）、速效钾（AK）、pH、电导率（EC）、总盐（TDS），共12个指标。

测量方法如下：土壤有机质采用重铬酸钾容量-外加热法；全氮采用高氯酸-硫酸消化法，福斯1035全自动定氮仪测定；全磷采用酸溶-钼锑抗比色法，安捷伦CARY60紫外分光光度计测定；全钾采用酸溶-原子吸收法，赛默飞S系列原子吸收光谱仪测定。硝态氮、铵态氮采用0.01 mol·L^{-1}氯化钙浸提，BRAN+LUEBBE AA3流动分析仪测定；速效磷采用钼锑抗比色法测定（碳酸氢钠浸提）；速效钾采用原子吸收法测定（乙酸铵浸提）；pH：梅特勒-托利多FiveEasy Plus pH计测定（水土比5∶1）；电导率采用HANNA H1 2315电导率仪测定；总盐用残渣烘干法测定（水土比5∶1）。

1.4 土壤细菌DNA提取、PCR扩增和上机测序

采用十六烷基三甲基溴化铵法（CTAB）提取土壤样品中微生物的基因组DNA，利用2%琼脂糖凝胶电泳检测DNA的纯度和浓度，取适量的样本DNA于离心管中，使用无菌水稀释样本至1 ng·μl^{-1}。以稀释后的基因组DNA为模板，选取16S V4区引物（515F和806R）、New England Biolabs公司的Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix with GC Buffer和高效高保真酶进行PCR[21]。使用2%浓度的琼脂糖凝胶对得到的PCR产物进行电泳检测，使用Qiagen公司提供的胶回收试剂盒对PCR产物进行回

收,用建库试剂盒(TruSeq® DNA PCR-Free Sample Preparation Kit)进行文库构建,构建后的文库经过Qubit和Q-PCR定量,质检合格后,送至北京康普森生物技术有限公司利用Illumina NovaSeq6000测序平台对该文库进行高通量测序。

1.5 测序数据处理

对Illumina NovaSeq6000测序得到的下机数据(Raw reads)进行拼接(FLASH软件)和质控(QIIME1软件),得到高质量的Tags数据(Clean tags),再进行嵌合体过滤,得到可用于后续分析的有效数据(Effective tags)。根据97%的一致性(Identity)将序列聚类成为操作分类单元(OTUs),将其与Silva132数据库进行物种注释,根据物种注释情况,进一步计算 α 多样性,进行组间差异的比较。

1.6 数据分析

利用QIIME软件计算土壤样品细菌的多样性指数[22],包括计算菌群丰富度(Chao1指数、ACE指数)、菌群多样性[香农指数(Shannon)和辛普森指数(Simpson)],计算Unifrac距离并通过非加权组平均法UPGMA(Unweighted pair-group method with arithmetic mean)构建UPGMA样本聚类树。统计分析使用SPSS 22.0软件,数据分析使用单因素方差分析。采用典型关联分析(CCA),结合斯皮尔曼(Spearman)相关系数法进行细菌群落组成和环境因子的关联分析。

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质

不同生长时期胡杨根际土壤理化性质如表2所示,胡杨根际土壤pH为7.78~9.49,部分土壤理化性质在各时期胡杨根际土壤内存在差异,除速效钾、速效磷以外,全氮、全磷、全钾含量在胡杨生长过程中含量基本稳定,且在衰亡期胡杨根际土壤中含量最高。4个时期胡杨根际土壤中硝态氮含量均低于裸地,铵态氮含量没有显著性差异(P>0.05)。衰亡期胡杨根际土壤中的速效钾含量是其余3个时期的3~8倍;速效磷含量是其余3个阶段的2~3倍。电导率与总盐含量在幼龄期、中壮期、过熟期胡杨没有显著性差异(P>0.05),衰亡期胡杨根际土壤电导率为7.96 ms·cm^{-1},总盐含量为30.01 g·kg^{-1},均显著高于其余3个时期(P<0.05)。

表2 不同生长时期胡杨根际土壤理化性质

Tab. 2 Physicochemical properties of rhizosphere soil of *Populus euphratica* at different developmental periods

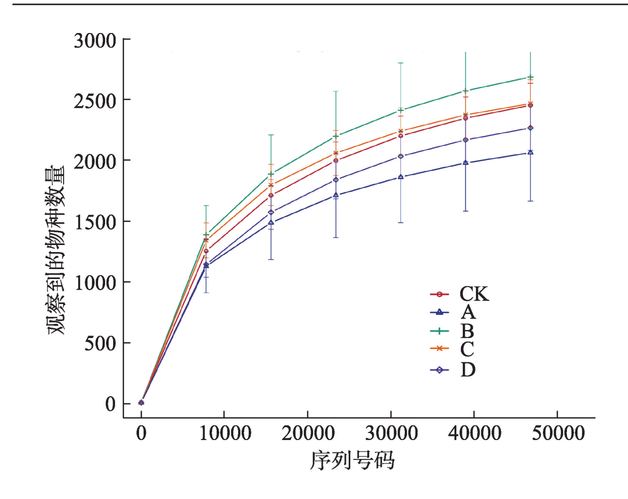
土壤理化性质	幼龄期(A)	中壮期(B)	过熟期(C)	衰亡期(D)	裸地(CK)
含水量(SWC)/%	6.34±0.65a	3.41±1.11bc	3.17±1.05bc	5.02±0.24ab	1.61±0.09c
有机质(OM)/g·kg^{-1}	7.06±1.66ab	7.17±2.13ab	5.66±1.11b	11.04±1.44a	5.16±0.78b
全氮(TN)/g·kg^{-1}	0.42±0.07ab	0.51±0.03ab	0.37±0.04b	0.54±0.02a	0.41±0.02ab
全磷(TP)/g·kg^{-1}	0.58±0.01a	0.61±0.03a	0.61±0.05a	0.64±0.01a	0.65±0.03a
全钾(TK)/g·kg^{-1}	18.25±0.54b	17.54±0.18bc	17.93±0.23b	19.71±0.15a	16.85±0.23c
硝态氮(NO_3^-)/mg·kg^{-1}	4.86±1.04ab	3.16±2.19b	2.84±0.87b	3.97±0.43ab	8.14±2.35a
铵态氮(NH_4^+)/mg·kg^{-1}	2.49±0.04a	2.94±0.41a	2.46±0.69a	2.11±0.31a	2.72±0.21a
速效磷(AP)/mg·kg^{-1}	3.06±1.83ab	2.01±1.45b	1.86±1.09b	6.03±0.93a	2.31±0.71ab
速效钾(AK)/mg·kg^{-1}	421.81±35.05c	345.13±118.76c	931.10±215.86b	3398.67±235.91a	389.78±81.09c
pH	7.78±0.05c	8.43±0.13b	8.61±0.15b	9.49±0.19a	7.89±0.19c
电导率(EC)/mS·cm^{-1}	2.78±0.15b	2.11±1.46b	2.74±1.08b	7.96±1.14a	5.34±0.78ab
总盐(TDS)/g·kg^{-1}	9.78±0.42b	7.81±5.34b	8.65±3.88b	30.01±4.59a	18.84±2.98ab

注:表中数值为平均值±标准差;同行不同字母之间表示差异显著(P<0.05)。

2.2 土壤样品测序结果与测序深度评估

通过对胡杨根际土壤以及裸地土壤细菌的16S rDNA测序,基于Illumina NovaSeq6000测序平台测序共得到98028条有效数据序列,以97%的一致性将序列聚类成为OTUs,共得到7287个OTUs,由图1所示,土壤样品的稀释曲线皆趋于平缓,说明该测序深度已基本覆盖样品中所有细菌类群,能够反应胡杨根际土壤细菌群落的真实情况。

由图2所示,胡杨根际土壤样品与裸地样品中共有1626个OTUs,此外各生长时期独有OTUs数量均高于裸地,裸地(277)、幼龄期(296)、中壮期(695)、过熟期(448)、衰亡期(333)。由4个时期胡



注：CK为裸地，A为幼龄期，B为中壮期，C为过熟期，D为衰亡期。下同。

图1　稀释曲线

Fig. 1　Rarefaction curves of soil samples

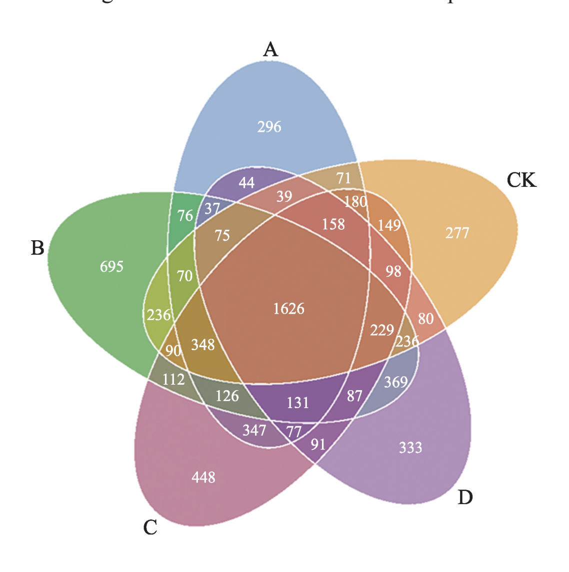


图2　样品OTUs水平韦恩图

Fig. 2　Venn diagram of OTUs level in each sample

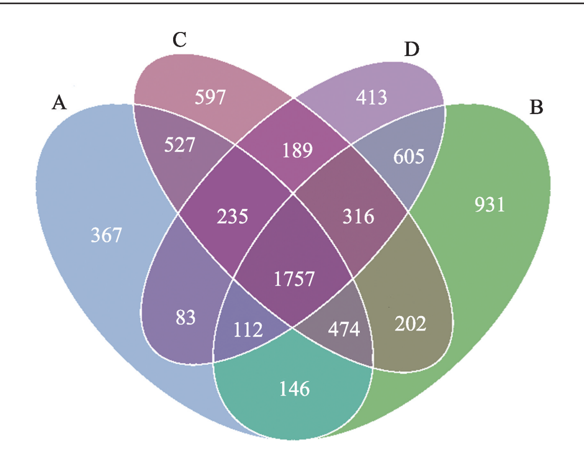


图3　胡杨根际细菌OTUs水平韦恩图

Fig. 3　Venn diagram at OTUs level in the rhizosphere of Populus euphratica

杨根际土壤中细菌OTUs数目的Venn图（图3）可以看出，4个时期共有的OTUs为1757个。中壮期的胡杨根际土壤中OTUs数量最多（4543），其次是过熟期（4297）和衰亡期（3710），幼龄期最低（3701）。此外，各时期独有的OTUs个数分别为367、931、597个和413个，占各自OTUs数的9.92%、20.49%、13.89%、11.13%。

2.3　不同生长时期胡杨根际土壤细菌群落α多样性

α多样性指数的统计结果见表3，不同生长时期胡杨根际细菌的Coverage指数都接近100%，由此也进一步证明样本序列被检测出的完整性，在此水平上的测序结果能够反映出所测样本中细菌群落组成的真实情况。本试验采用香农指数（Shannon）和辛普森指数（Simpson）反映细菌群落多样性，Chao1指数和ACE指数反映细菌群落丰富度。通过计算以上指数发现，过熟期胡杨根际土壤样品具有较高Shannon指数和Simpson指数，说明该时期胡杨根际细菌群落多样性较高；中壮期胡杨根际土壤样品具有较高Chao1指数和ACE指数，说明该时期根际土壤细菌群落丰富度均高于其他时期，不同生长时期胡杨根际土壤中细菌丰富度和多样性之间差异不显著。

2.4　根际细菌群落组成

土壤样品的OTUs代表序列经过对比鉴定共得

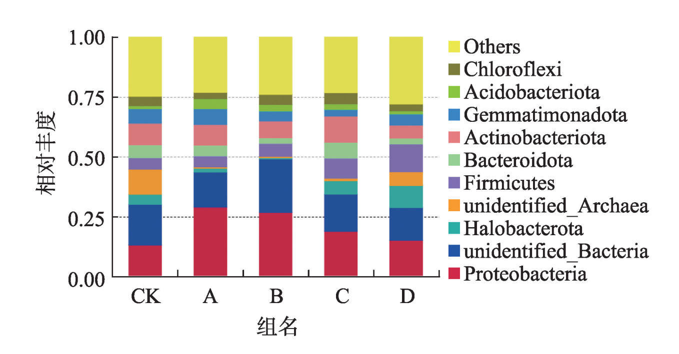
表3　样品的多样性指数

Tab. 3　Diversity indices for each sample

生长时期	Shannon指数	Simpson指数	Chao1指数	ACE指数	覆盖率
裸地（CK）	8.23±0.39a	0.9840±0.0052a	2724.56±211.81a	2850.77±240.89a	0.9887±0.0006
幼龄期（A）	8.18±0.76a	0.9817±0.0157a	2536.04±181.46a	2425.85±420.43a	0.9903±0.0006
中壮期（B）	8.83±0.70a	0.9917±0.0038a	3003.81±509.22a	3136.30±534.48a	0.9873±0.0012
过熟期（C）	8.86±0.40a	0.9920±0.0017a	2729.57±277.58a	2790.52±240.48a	0.9897±0.0006
衰亡期（D）	7.85±0.90a	0.9753±0.0201a	2549.67±249.84a	2653.46±253.02a	0.9890±0.0010
P值	0.324	0.419	0.398	0.250	

注：Shannon指数为香农指数；Simpson指数为辛普森指数；表中数值为平均值±标准差；同一列不同字母之间表示差异显著（P<0.05）。

到73门、165纲、339目、454科、651属和205种的土壤细菌物种信息。在门(Phylum)水平上，如图4所示，胡杨根际中主要的优势细菌门为变形菌门(Proteobacteria)、unidentified_Bacteria、Halobacterota，这3类菌群在不同生长时期胡杨根际土壤中的比例存在一定差异。变形菌门在幼龄期胡杨根际土壤中的相对丰度最高为29.05%，随着胡杨的生长发育，该细菌丰度呈现下降趋势；unidentified_Bacteria在中壮期胡杨根际土壤中相对丰度最高为22.32%；Halobacterota在衰亡期胡杨根际土壤中相对丰度最高为9.31%，在中壮期胡杨根际土壤中仅有0.063%。

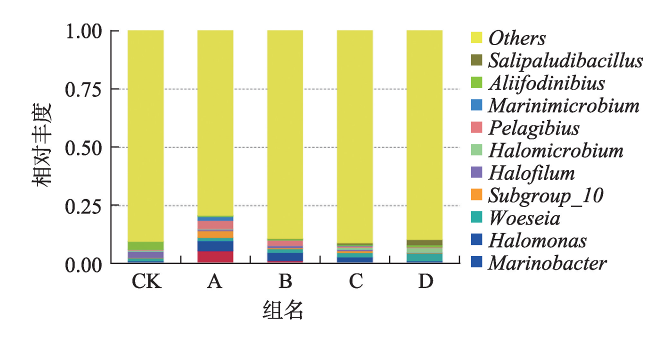


注：Proteobacteria，变形菌门；Firmicutes，厚壁菌门；Bacteroidota，拟杆菌门；Actinobacteria，放线菌门；Acidobacteriota，酸杆菌门；Chloroflexi，绿弯菌门。下同。

图4 门水平下的根际土壤细菌群落(前10名)

Fig. 4 Rhizosphere soil bacterial communities at phylum level (Top 10)

在属(genus)分类水平上(图5)，各样本主要存在的主要菌属为海杆菌属(*Marinobacter*)、嗜盐单胞菌属(*Halomonas*)、*Woeseia*、*Subgroup_10*、*Halofilum*、盐微菌属(*Halomicrobium*)、*Pelagibius*、*Marinimicrobium*、*Aliifodinibius*和琼脂盐杆菌属(*Salipaludibacillus*)，不同生长时期的最优菌属不同。作为优势菌属的*Marinobacter*在幼龄期胡杨根际土壤中相对丰度最高为5.43%，在其余时期含量较低；嗜盐单胞菌属在幼龄期胡杨根际土壤中丰度最高为4.35%，随着胡杨的生长发育，该细菌属的丰度逐渐降低，在衰亡期胡杨根际土壤中丰度为0.70%；*Woeseia*在衰亡期胡杨土壤中丰度最高为3.51%，在幼龄期根际土壤中含量最低为1.37%。



注：*Marinobacter*，海杆菌属；*Halomonas*，嗜盐单胞菌属；*Halomicrobium*，盐微菌属；*Salipaludibacillus*，琼脂盐杆菌属。

图5 属水平下的根际土壤细菌群落(前10名)

Fig. 5 Rhizosphere soil bacterial communities at genus level (Top 10)

对土壤样品中细菌群落进行聚类分析(图6)，利用样品序列中的进化信息，分析比较其是否在特定的进化谱系中具有显著的微生物群落差异。结果显示不同生长时期胡杨根际土壤中细菌群落组成可以分为两大类，中壮期胡杨根际土壤样品与裸地土壤的细菌群落组成具有很高的相似性，并与衰亡期的根际土壤样品聚为一类，幼龄期胡杨与过熟期胡杨根际土壤样品具有很高的相似性。

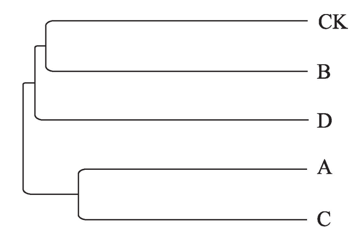
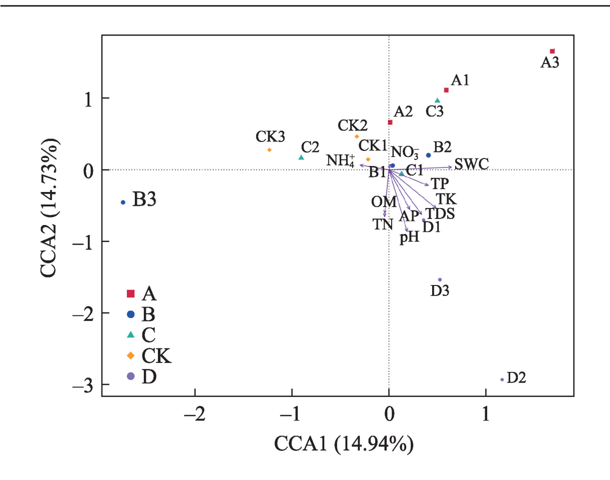


图6 样品间UPGMA聚类图

Fig. 6 UnWeighted UniFrac analysis between samples

2.5 根际细菌群落与环境因子的相关性

采用CCA分析探究影响4个生长时期胡杨根际土壤细菌群落组成的环境因子(图7)，排除自相关环境因子(速效钾、电导率)，保留对菌群影响较大的环境因子(含水量、有机质、全氮、全磷、全钾、硝态氮、铵态氮、速效磷、pH、总盐)结合OTUs表格进行分析。由图7所示，含水量、总盐、pH、全钾是显著影响胡杨根际土壤细菌群落组成的环境因子($P<0.05$)，其中第一排序轴的解释量为14.94%，第二排序轴的解释量为14.73%。同时利用Spearman相关性分析，选取门水平相对丰度前35的物种进行土壤理化因子与其相对含量之间的相关分析，相关性热图由图8所示。结果表明有机质、全氮与门水平上物种分布具有显著的正相关关系($P<0.05$)，全磷、电导率、总盐含量与物种组成有显著的负相关关系($P<0.05$)。土壤含水量与Desulfobacterota的相对含量显著负相关($P<0.05$)；土壤全钾与Bdellovibrionota显著正相关($P<0.05$)，与Thermoplasmatota显著负



注：CCA1、CCA2分别为第一排序轴、第二排序轴；SWC，土壤含水量；OM，土壤有机质；TN，全氮；TP，全磷；TK，全钾；NO_3^-，硝态氮；NH_4^+，铵态氮；AP，速效磷；TDS，总盐。下同。

图7 土壤样品细菌群落与环境因子间的典范对应分析（CCA）

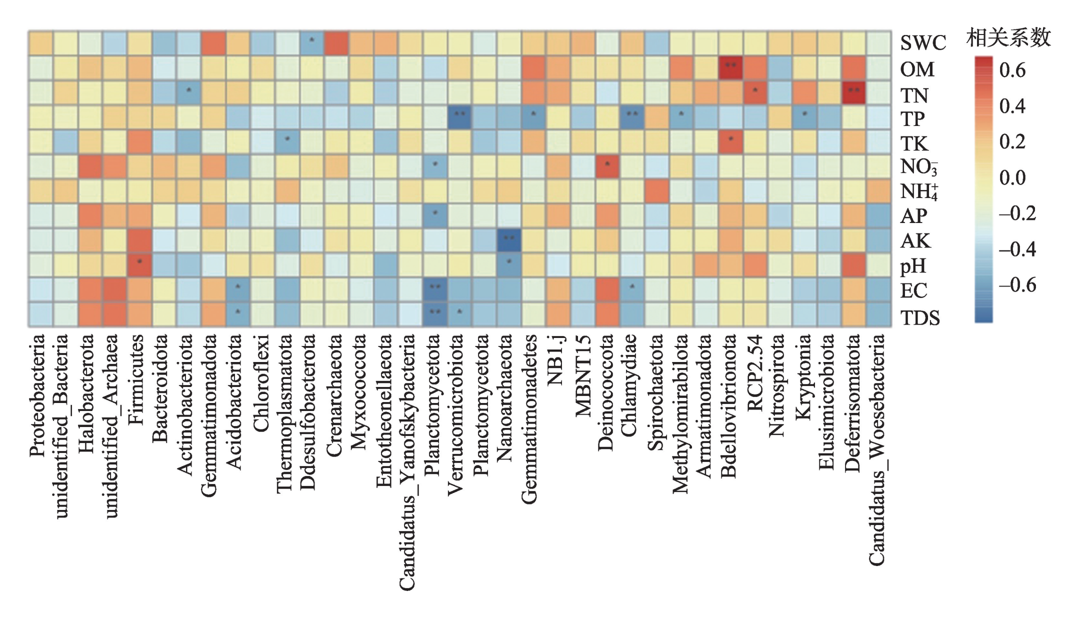
Fig. 7 Canonical correspondence analysis (CCA) between environmental factors and soil bacteria communities

相关（P<0.05）；土壤硝态氮含量与Deinococcota显著正相关（P<0.05），与Planctomycetota显著负相关（P<0.05）；pH、速效钾含量与Nanoarchaeota显著负相关（P<0.05）。

3 讨 论

土壤水分及养分是大多数植被所赖以生存的生长发育物质，能够保证其获得能量和转换，并影响最终的存活[23]。尤其在干旱地区，水分的有效性和土壤养分含量更是影响植被生长发育的关键限制因素[24]。塔里木河下游属于极端干旱地区，土壤含水量对胡杨能否定植成功、得以生存至关重要。本研究在对胡杨根际土壤、无植被覆盖的裸地土壤进行理化性质分析时发现，胡杨根际土壤含水量均明显高于裸地，且在幼龄期土壤中达到最高，在研究区进行采样时也发现，幼龄胡杨多生长于易积水的地势中。衰亡期胡杨的土壤养分与总盐含量明显高于其余时期，这与关添泽等[25]对不同发育阶段胡杨土壤理化性质的研究结果一致，胡杨根部土壤养分有较强的聚集，随着树龄的增加与生长势的衰弱，根际土壤养分逐渐富集的同时植株对土壤盐分的吸收能力下降，积盐作用增强。此外，裸地的硝态氮含量显著高于胡杨根际土壤，推测是与植物在生长发育过程中对营养元素的吸收利用有关。

植物根际微生物的群落结构受多种生物与非生物因素的影响，不同地区土壤的理化性质宏观影响了该地区土壤中的微生物类群，而植物的种类与生长阶段等因素则决定了哪些微生物能够在根际富集[26]。变形菌门（Proteobacteria）作为主要优势菌群在胡杨不同生长期均有分布且丰度较高，在幼龄期相对丰度最大达29.05%。根际土壤中的微生物



注：*代表P<0.05，**代表P<0.01；AK，速效钾；EC，电导率；Crenarchaeota，泉古菌门；planctomycetes，浮霉菌门；Nanoarchaeota，纳米古菌门；Gemmatimonadetes，芽单胞菌门；Chlamydiae，衣原体门。

图8 环境因子与细菌群落组成（门水平）相关性热图

Fig. 8 Spearman correlationship analysis of environmental factors and soil bacteria communities (phylum level)

群落以生长速度更快的富营养型细菌为主,如Proteobacteria、拟杆菌门(Bacteriodetes)、厚壁菌门(Firmicutes)、放线菌门(Actinobacteria)等[27],此类菌群在不同生长时期胡杨根际土壤中皆有存在,它们能够释放并帮助根系吸收植物可利用的钾、磷和其他微量营养元素[28],以便植物更好的生长。除此之外,Proteobacteria和Bacteriodetes也是大多干旱区土壤的优势菌[29-30],对维持盐碱土壤生态系统稳定性有重要作用。程冬梅等[31]以塔里木河流域天然胡杨林根际土壤为研究对象进行16S rDNA测序时发现,土壤中优势种群为变形菌门,与本研究结果相似。通过对属分类水平下根际细菌群落组成的分析发现,胡杨根际细菌群落主要的优势细菌属为海杆菌属(*Marinobacter*)、嗜盐单胞菌属(*Halomonas*)、*Woeseia*,相较于门分类学水平,属分类学水平上最优菌群在不同时期内存在较大差异,幼龄期最优菌属为*Marinobacter*,中壮期与过熟期最优菌属为*Halomonas*,衰亡期最优菌属为*Woeseia*,但是,通过对属分类水平下的胡杨根际土壤细菌群落组成研究发现,未被分类的物种还有许多,这可能是由于与胡杨根际微生物相关的研究还未深入而引起的。

通过对4个不同生长时期胡杨根际土壤细菌群落组成的研究,发现细菌多样性和丰富度在不同时期胡杨根际土壤内没有显著变化。结合各时期OTUs数量以及多样性指数的计算,过熟期胡杨根际土壤细菌群落多样性最高,中壮期胡杨根际土壤细菌群落丰富度最高,细菌多样性和丰富度整体表现为先增长后下降趋势。

土壤环境与土壤微生物群落组成密切相关,根际土壤养分含量与理化性质的变化更是直接影响根际微生物的生存,进而影响植物的生长。胡杨根际细菌群落组成与环境因子的相关性分析结果表明,土壤含水量、总盐、pH、全钾4个环境因子对胡杨根际土壤细菌群落组成有显著影响($P<0.05$)。本文主要研究了胡杨根际细菌群落多样性以及关键的环境因子,未涉及对根际细菌群落的功能预测分析,因此,在后续的研究中可以加强对根际细菌群落功能多样性方面的研究,为干旱区根际微生物的研究提供更全面的科学参考。

4 结 论

本研究以塔里木河下游不同生长时期的胡杨根际土壤为研究对象,利用高通量测序技术对胡杨根际土壤细菌进行测序,分析了细菌群落与环境因子的关系,探究了影响细菌群落的关键环境因子,得出以下主要结论:

(1) 胡杨根际土壤细菌群落丰富度和多样性随生长时期表现为先增加后降低的趋势,不同生长时期间无显著差异。

(2) 通过对根际土壤样品细菌群落组成的分析发现,变形菌门(Proteobacteria)、unidentified_Bacteria、Halobacterota为主要优势细菌门,海杆菌属(*Marinobacter*)、嗜盐单胞菌属(*Halomonas*)、*Woeseia*为主要优势细菌属,相较于门分类学水平,细菌群落组成在属水平上存在较大差异。

(3) 4个生长时期胡杨根际土壤细菌群落主要分为两大类,中壮期与衰亡期的土壤样品聚为一类,幼龄期与过熟期的土壤样品聚为一类。

(4) 通过环境因子与根际细菌群落关系的研究表明,土壤含水量、全钾、总盐、pH是显著影响胡杨根际土壤细菌群落组成的环境因子($P<0.05$)。

致谢:感谢北京康普森生物技术有限公司对本试验提供测序技术支持。

参考文献(References)

[1] 王世绩. 全球胡杨林的现状及保护和恢复对策[J]. 世界林业研究, 1996(6): 37-44. [Wang Shiji. The status, conservation and recovery of global resources of *Populus euphradica*[J]. World Forestry Research, 1996(6): 37-44.]

[2] 周莹莹, 陈亚宁, 朱成刚, 等. 塔里木河下游胡杨(*Populus euphratica*)种群结构[J]. 中国沙漠, 2018, 38(2): 315-323. [Zhou Yingying, Chen Yaning, Zhu Chenggang, et al. Population structure characteristics of *Populus euphratica* in the lower reaches of Tarim River[J]. Journal of Desert Research, 2018, 38(2): 315-323.]

[3] 杨玉海, 陈亚宁, 蔡柏岩, 等. 极端干旱区胡杨根围丛枝菌根真菌的分离与鉴定[J]. 干旱区地理, 2012, 35(2): 260-266. [Yang Yuhai, Chen Yaning, Cai Baiyan, et al. Arbuscular mycorrhizal in roots of *Populus euphratica* in the lower reaches of Tarim River in extreme arid area[J]. Arid Land Geography, 2012, 35(2): 260-266.]

[4] 李丽君, 张小清, 陈长清, 等. 近20 a塔里木河下游输水对生态环境的影响[J]. 干旱区地理, 2018, 41(2): 238-247. [Li Lijun, Zhang Xiaoqing, Chen Changqing, et al. Ecological effects of water conveyance on the lower reaches of Tarim River in recent twenty years[J]. Arid Land Geography, 2018, 41(2): 238-247.]

[5] Deng C Z, Zhang X M, Wu J X, et al. The influences of water conveyance embankments on the *Populus euphratica*'s communities and populations in the middle research of Tarim River[J]. Acta

Ecologica Sinica, 2010, 30(5): 1356–1366.

[6] 韩璐, 王家强, 王海珍, 等. 塔里木河上游胡杨种群结构与动态[J]. 生态学报, 2014, 34(16): 4640–4651. [Han Lu, Wang Jiaqiang, Wang Haizhen, et al. Population structure and dynamics of *Populus euphratica* in the upper reaches of Tarim River[J]. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(16): 4640–4651.]

[7] Davide B, Ruben G, Philipp C, et al. Structure and function of the bacterial root microbiota in wild and domesticated barley[J]. Cell Host & Microbe, 2015, 17(3): 392–403.

[8] Fierer N, Breitbart M, Nulton J, et al. Metagenomic and small-subunit rRNA analyses reveal the genetic diversity of bacteria, archaea, fungi, and viruses in soil[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(21): 7059–7066.

[9] 黄志强, 邱景璇, 李杰, 等. 基于16S rRNA基因测序分析微生物群落多样性[J/OL]. 微生物学报. [2021–02–04]. https://doi.org/10.13343/j.cnki.wsxb. 20200336. [Huang Zhiqiang, Qiu Jingxuan, Li Jie, et al. Exploration of microbial diversity based on 16S rRNA gene sequence analysis[J/OL]. [2021–02–04]. Acta Microbiologica Sinica. https://doi.org/10.13343/j.cnki.wsxb.20200336.]

[10] Leininger S, Urich T, Schloter M, et al. Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils[J]. Nature, 2006, 442(7104): 806–809.

[11] Rafael V, Maurício D C, Júlio César L N, et al. Rhizosphere microbiological processes and eucalypt nutrition: Synthesis and conceptualization[J]. Science of the Total Environment, 2020, 746: 141305, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.141305.

[12] Matthew C E, Olubukola O B. Effects of inorganic and organic treatments on the microbial community of maize rhizosphere by a shotgun metagenomics approach[J]. Annals of Microbiology, 2020, 70(1): 70–78.

[13] Han Q, Ma Q, Chen Y, et al. Variation in rhizosphere microbial communities and its association with the symbiotic efficiency of rhizobia in soybean[J]. The ISME Journal, 2020, 14(8): 1915–1928.

[14] 袁仁文, 刘琳, 张蕊, 等. 植物根际分泌物与土壤微生物互作关系的机制研究进展[J].中国农学通报,2020, 36(2): 26–35. [Yuan Renwen, Liu Lin, Zhang Rui, et al. The interaction mechanism between plant rhizosphere secretion and soil microbe[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2020, 36(2): 26–35.]

[15] Marschner P, Yang C H, Lieberei R, et al. Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2001, 33(11): 1437–1445.

[16] 孙建波, 邹良平, 李文彬, 等. 香蕉不同生育期根际土壤细菌群落变化研究[J]. 热带作物学报, 2016, 37(6): 1168–1171. [Sun Jianbo, Zou Liangping, Li Wenbin, et al. The variation of bacterial community in the banana rhizosphere soil at different growth stages[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2016, 37(6): 1168–1171.]

[17] 李智卫, 王超, 陈伟, 等.不同树龄苹果园土壤微生物生态特征研究[J]. 土壤通报, 2011, 42(2): 302–306. [Li Zhiwei, Wang Chao, Chen Wei, et al. Biological characteristics of soil microorganisms in apple orchards with different ages[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2011, 42(2): 302–306.]

[18] 杨青, 何清. 塔里木河流域下游的气候变化与生态环境[J]. 新疆气象, 2000, 23(3): 11–14. [Yang Qing, He Qing. Relationship between climate change and ecological environment in the lower reaches of Tarim River Basin[J]. Bimonthly of Xinjiang Meteorology, 2000, 23(3): 11–14.]

[19] 王世绩, 陈炳浩, 李护群. 胡杨林[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1995. [Wang Shiji, Chen Binghao, Li Huqun. *Populus euphratica* forest[M]. Beijing: China Environmental Science Press, 1995.]

[20] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000. [Bao Shidan. Soil and agricultural chemistry analysis[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000.]

[21] Walters W, Hyde E R, Berg-Lyons D, et al. Improved bacterial 16S rRNA gene (V4 and V4-5) and fungal internal transcribed spacer marker gene primers for microbial community surveys[J]. mSystems, 2016, 1(1): 9–15.

[22] 王巍琦, 李变变, 张军, 等.干旱区不同类型盐碱土壤细菌群落多样性[J]. 干旱区研究, 2019, 36(5): 1202–1211. [Wang Weiqi, Li Bianbian, Zhang Jun, et al. Diversity of bacterium communities in saline or alkaline soil in arid area[J]. Arid Zone Research, 2019, 36(5): 1202–1211.]

[23] 丁丽, 冀玉良, 李懿. 不同林龄油松根际土壤微生物群落多样性及其影响因子[J]. 水土保持研究, 2020, 27(4): 184–191, 200. [Din Li, Ji Yuliang, Li Yi. Soil microbial diversity and its influencing factors in rhizosphere and non-rhizosphere in the stands of *Pinus tabuliformis* with different ages in Minjiang River valley[J]. Research of Soil and Water Conservation, 2020, 27(4): 184–191, 200.]

[24] 高瑜莲, 柳锦宝, 柳维扬, 等. 近14 a新疆南疆绿洲地区地表蒸散与干旱的时空变化特征研究[J]. 干旱区地理, 2019, 42(4): 830–837. [Gao Yulian, Liu Jinbao, Liu Weiyang, et al. Spatio-temporal variation characteristics of surface evapotranspiration and drought at the oasis area of the southern Xinjiang in recent 14 years[J]. Arid Land Geography, 2019, 42(4): 830–837.]

[25] 关添泽, 于萌, 卢刚, 等. 基于分形维数的不同发育阶段胡杨对土壤理化性质的影响[J]. 江苏农业科学, 2020, 48(20): 293–300. [Guan Tianze, Yu Meng, Lu Gang, et al. Effects of different developmental stages of *Populus euphratica* on soil physical and chemical properties based on fractal dimension[J]. Jiangsu Agricultural Science, 2020, 48(20): 293–300.]

[26] Walters W A, Jin Z, Youngblut N, et al. Large-scale replicated field study of maize rhizosphere identifies heritable microbes[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2018, 115(28): 7368–7373.

[27] Tian P, Razavi B S, Zhang X C, et al. Microbial growth and enzyme kinetics in rhizosphere hotspots are modulated by soil organics and nutrient availability[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2020, 141: 107662, doi: 10.1016/j.soilbio.2019.107662.

[28] Zhang R F, Vivanco J M, Shen Q R. The unseen rhizosphere root-soil-microbe interactions for crop production[J]. Current Opinion in Microbiology, 2017, 37: 8–14.

[29] Orlando J, Alfaro M, Bravo L, et al. Bacterial diversity and occurrence of ammonia-oxidizing bacteria in the Atacama Desert soil

during a “desert bloom” event[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2010, 42(7): 1183-1188.

[30] Nagy M L, Alejandro P, Garcia-Pichel F. The prokaryotic diversity of biological soil crusts in the Sonoran Desert organ pipe cactus national monument[J]. Fems Microbiology Ecology, 2010, 54(2): 233-245.

[31] 程冬梅, 唐雅丽, 张坤迪, 等. 新疆天然胡杨林地区根际微生物的种群分析[J]. 生态科学, 2013, 32(6): 711-717. [Cheng Dongmei, Tang Yali, Zhang Kundi, et al. Analysis of bacterial community isolated from rhizosphere of the natural euphrates poplar forest[J]. Ecological Science, 2013, 32(6): 711-717.]

Bacterial communities diversity of *Populus euphratica* rhizospheric soil in the lower reaches of Tarim River

LI Yuanyuan, PENG Mengwen, DANG Hanli,
JIANG Meng, ZHUANG Li, LI Guifang

(School of Life Sciences, Shihezi University, Shihezi 832003, Xinjiang, China)

Abstract: Rhizosphere bacteria play an essential role in promoting plant growth and protecting plant health. In this study, we use the high throughput sequencing to analyze rhizosphere bacteria at different developmental periods of *Populus euphratica* (the four periods are young, medium, overripe, and decline periods) in the lower reaches of Tarim River in Xinjiang, China. Canonical correspondence and Spearman correlation analyses were used to investigate the correlation between bacterial community and environmental factors. The results showed that (1) out of the soil samples collected from the soils under the four developmental periods of *P. euphratica*, 98028 effective sequences and 7287 operational taxonomic units (OTUs) were obtained, the OTUs numbers of the four periods were 3701, 4543, 4297, and 3710, respectively. From comparative identification, 73 phyla, 165 classes, 339 orders, 454 families, 651 genera, and 205 species were obtained with the development of *P. euphratica*. (2) Alpha diversity analysis showed that the bacterial community diversity was the highest at the overripe period (Shannon and Simpson index), the bacterial community abundance was the highest at the medium period (Chao1 and ACE index), the abundance and diversity of the rhizosphere bacterial community showed a trend of first increasing and then decreasing; however, there was no significant difference in bacterial abundance and diversity in rhizosphere soil at different developmental periods. (3) Proteobacteria, unidentified_Bacteria, and Halobacterota were the dominant bacteria at the phylum level in the rhizosphere of *P. euphratica*, whereas *Marinobacter*, *Halomonas*, and *Woeseia* were the dominant bacteria at the genus level. Compared with the phylum level, the bacterial community composition of soil samples was significantly different at the genus level. The dominant bacterial genera of rhizosphere bacterial community of *P. euphratica* were different in different developmental periods; *Marinobacter*, *Halomonas*, and *Woeseia* were, respectively, the optimal bacteria genus in the young, medium/overripe, and decline periods. (4) As shown in the cluster analysis, the bacterial communities of all soils were divided into two groups: the medium and decline periods were clustered into one group, and the young and overripe periods were clustered into another group. (5) Canonical correspondence analysis showed that the soil water content, total potassium, total salt, and soil pH were the main environmental factors influencing the bacterial community composition in the rhizosphere soil of *P. euphratica* ($P<0.05$). The results revealed the composition of rhizosphere bacterial communities in different periods of *P. euphratica* and the main environmental factors affecting the community composition. The findings in this study may provide a scientific basis for the study of rhizosphere microorganisms and the interaction between plants and microorganisms in arid areas.

Key words: rhizosphere; soil microorganism; high throughput sequencing; bacterial community; Tarim River